

Глава 4

Улучшение результатов за счет комплексной молекулярной диагностики и целенаправленной противобиопленочной терапии

Дж.П. Кеннеди, К.Е. Джонс

Аннотация. Молекулярная диагностика является проверенным клиническим инструментом, который в настоящее время доступен для большинства врачей. Учитывая постоянное расширение перечня микробной популяции, которую она позволяет оценивать на уровне ДНК, перед нами открывается новая микробная вселенная, интерпретация которой может кардинально изменить возможные результаты лечения пациентов. Если говорить о хронической инфекции, то даже результаты традиционного культурального метода могут интерпретироваться по-разному. Чтобы повлиять на клинические результаты, авторы предлагают проводить протокол эскалации хронической инфекции

с использованием нескольких параллельных стратегий. Ключевым аспектом, на котором будут основаны несколько подразделов протокола, является сочетание диагностической объективности и точности методов молекулярной диагностики. Использование комбинации ПЦР и ПС при хронических ранах позволяет получить клинические результаты, которые приведены в качестве примера хронической инфекции. Абсолютные показатели заживления раны при местной терапии, основанной на микробной ДНК, включающем антибиотики и противобактериальные препараты, были примерно в 2 раза выше, чем если бы терапия выбиралась на основе результатов посева ($p < 0,001$). Кроме того, медиана периода времени до закрытия раны составила 177 дней для лечения инфекции, выявленной с помощью посева, против 28 дней для терапии, основанной на данных анализа микробной ДНК ($p < 0,001$). Не имея ограничений и систематических погрешностей, связанных с методом посева, метод ПЦР и ПС с высокой точностью идентифицирует все известные бактерии, дрожжи и грибы. В то время как польза этого метода при исследовании хронических ран стала достаточно ясной, необходимость его использования при лечении хронических инфекций с использованием стратегии активного вмешательства, когда речь идет о наличии разных видов микробов, несомненна.

4.1. ВВЕДЕНИЕ

Молекулярная диагностика больше не является предметом исследований из будущего. В настоящее время методы молекулярной диагностики понятны и считаются проверенными инструментами, доступными для большинства врачей, а также для страховых компаний. Несмотря на ограниченность доказательной базы в литературе, попытки называть эти методы скорее «исследовательскими», чем клиническими (а потому не столь эффективными в реальной практике), по сути являются пренебрежением подтвержденными фактами. Кроме того, суть диагностики в отношении микробных патогенов заключается в точной идентификации бактерии, а не в клинических исходах. Исходы — это показатель эффективности лечебных стратегий, выбор и эффективность которых неразрывно связаны с диагностической точностью. Очевидно, что определенность на уровне ДНК, подкрепленная молекулярными методами, не будет подвергаться сомнению даже самыми яркими сторонниками традиционной диагностики на основе результатов посева. Вопрос

возникает при попытках клинической интерпретации результатов, так как это всегда творческий процесс. Несмотря на непрекращающиеся споры и отсутствие единого мнения по данному вопросу, именно во время интерпретации можно добиться значительного улучшения неблагоприятных исходов в медицинской практике. Игнорировать или избежать интерпретации было бы пренебрежением нашим долгом — двигать медицину вперед. В целом в данной книге описывается ряд диагностических и лечебных проблем, связанных с фенотипами бактериальной биопленки. В этой главе будет рассмотрен окончательный пример клинических исходов для хронической инфекции, который демонстрирует, как точность молекулярной диагностики может интегрироваться с современной стратегией лечения биопленочных инфекций. Прежде чем углубиться в вопросы молекулярной диагностики и стратегий лечения инфекций, стоит отметить, что вы, как врач, читая этот текст, сразу же хотите получить что-то для практического использования. Во-первых, много противоречий окружает само слово «инфекции». Большинство врачей имеют свою собственную точку зрения на эту тему, хотя общее мнение как не было, так и нет. При острой инфекции классические первичные признаки инфекции (боль, эритема, отек, повышение местной температуры и гнойный экссудат) позволяют поставить предварительный диагноз, в то время как лабораторные методы диагностики обычно используются для подтверждения и идентификации возбудителя. К большому сожалению острых инфекций относятся как к медицинской проблеме. Можно возразить, что неудачи в лабораторной диагностике при определении причины затмевались получением основательных подтверждений наличия острой инфекции при страшных проявлениях ее клинического течения.

Соответственно клиническая проблема, которая остается в значительной степени не решенной, — это хроническая инфекция, которая обычно следует паразитарной, а не хищнической. Если подойти к вопросу строго, единого мнения в отношении интерпретации причин и следствий результатов молекулярной или традиционной диагностики хронической инфекции нет. В литературе есть много ссылок и клинических мнений, согласно которым само наличие бактерий в некоторых тканях еще не свидетельствует о наличии инфекции. Кроме того, предлагаемые субъективные описания бионагрузки, такие как контаминация, колонизация, критическая колонизация и инфицирование, по большей части несут академический характер и никак не позволяют оценить бионагрузку объективно. Такие обозначения требуют

множества условных переменных, которые сформировались на основе имеющегося понимания острой патологии и ограниченного — хронической инфекции. При этом клинические признаки всегда представляют собой вторичные признаки инфекции (блок 4.1, рис. 4.1) (Gardner и др., 2001). Эти вторичные признаки в сочетании с количественным определением бактерий могут сыграть ключевую роль в диагностике хронической инфекции. Логично будет предполагать, что поддержание тканей в максимально физиологическом состоянии наиболее быстро способствовало бы возвращению нормальной физиологии и функции.

Блок 4.1. Вторичные признаки хронической инфекции [взято из Gardner и др. (2001)]

- Серозный экссудат.
- Изменение цвета тканей.
- Рыхлость ткани.
- Образование «карманов» в пределах ткани.
- Изменение запаха.
- Отсутствие динамики.



Рис. 4.1. Рана с вторичными признаками инфекции

Например, в нормальных условиях в структуре подкожной жировой клетчатки отсутствуют бактерии, имеющие специфическую локализацию. Таким образом, неспособность четко и объективно идентифицировать, количественно оценить и определить характер воздействия

бионагрузки препятствует стандартизации процесса лечения многих хронических инфекций.

Заключительным аргументом, вероятнее всего, будут защитные механизмы организма пациента. Так, клетки кожи и желудочно-кишечного тракта регулярно отшелушиваются, предсказуемо и с относительно высокой частотой, реснички клеток в наших легких способствуют постоянному перемещению слизи. Каждая открытая для воздействия факторов окружающей среды ткань в организме имеет аналогичную контрмеру. Нам приходится вспоминать об этом 2–3 раза в день, чистить зубы. Однако стоит только нарушить выполнение физических мер защиты организма (например, открытая рана или муковисцидоз), как ткани, лишенные профилактической механической защиты, подвергаются риску созревания биопленки и возникновению инфекционного поражения (острого или хронического). Это нельзя назвать абсолютным правилом, но любое нарушение защитных механизмов организма при одновременном выявлении значимых микробных патогенов должно рассматриваться как частичное доказательство наличия хронической инфекции.

4.2. СТРАТЕГИИ ЛЕЧЕНИЯ ХРОНИЧЕСКОЙ ИНФЕКЦИИ, НАПРАВЛЕННЫЕ ПРОТИВ БИОПЛЕНОК

По мере того как инфекция становится хронической, резидентные бактерии естественным образом принимают фенотип биопленки и, при наличии возможности, становятся зрелыми полимикробными сообществами. В отличие от острых инфекций, развитие которых подчиняется постулатам Коха, хронические инфекции лучше описывать как сообщество микробов, действующих как отдельная патология.

Несмотря на ограниченное понимание причин, классические протоколы лечения хронической инфекции всегда включали в себя стратегии, основанные на применении антибиотиков (по крайней мере, частично). Чтобы в более полной степени проиллюстрировать стратегии лечения, авторы предлагают любой идеальный протокол хронической инфекции представлять на примере модели «стула на четырех ножках». Авторы присвоили каждой из четырех ножек свою задачу — (1) физическое удаление биопленки, (2) точная диагностика, (3) терапия, направленная на разрушение биопленок и (4) антибиотики. Важно отметить, что все компоненты по возможности используются в комбинации,

чтобы добиться максимальных результатов (рис. 4.2). Эта стратегия применяется всегда, вне зависимости от этиологии. Ниже приводится краткое описание идеальных характеристик каждой из четырех ножек. Однако очевидно, что локализация пораженного участка ткани может ограничивать степень вовлечения конкретной «ножки» и/или ее возможности.

<p>Физическое удаление</p> <ul style="list-style-type: none"> • Часто (повторное) • Селективное • Быстрое <p>Ограничения</p> <ul style="list-style-type: none"> • Доступ к месту 	<p>Точная диагностика</p> <ul style="list-style-type: none"> • Точная • Полноценная (полимикробная) • Количественная <p>Ограничения</p> <ul style="list-style-type: none"> • Обычные ограничения метода посева
<p>Противобиопленочные препараты</p> <ul style="list-style-type: none"> • Целенаправленное неэмпирическое воздействие • Полноценное покрытие <p>Ограничения</p> <ul style="list-style-type: none"> • Доставка препарата/регулярные вопросы • Опыт/создание лекарственной формы препарата 	<p>Антибиотики</p> <ul style="list-style-type: none"> • Целенаправленное неэмпирическое воздействие • Полноценное покрытие • Чувствительность • Высокая концентрация/большая длительность <p>Ограничения</p> <ul style="list-style-type: none"> • Доставка препарата/токсичность

Рис. 4.2. «Стул на четырех ножках» — модель эффективных стратегий лечения биопленок [взято с изменениями из Kennedy (2011)]

4.2.1. Физическое удаление (дебридмент)

Первый и основополагающий этап — это физическое удаление биопленки или дебридмент. В идеале, это действие должно выполняться часто, многократно и избирательно. В редких случаях биопленку удается удалить полностью. Обычно же даже при агрессивных процедурах фрагменты биопленки остаются. Санация направлена в первую очередь на удаление основной части микрофлоры в области поражения. В качестве дополнительного преимущества El-Azizi и соавт. продемонстрировали заметное снижение устойчивости биопленки

к противомикробным препаратам после физического разрушения биопленки (El-Azizi и др., 2005). Опираясь на эти лабораторные данные, Wolcott и соавт. в своей работе показали, что разрушение биопленок является зависящее от времени окно оптимальной эффективности для применения антибиотиков (Wolcott и др., 2010b). Таким образом, оставшиеся три терапевтические «ножки» направлены на удаление этих фрагментов, используя терапевтический потенциал, созданный с помощью санации. В целом, если не провести столь массовое сокращение бионагрузки, вероятность успешного излечения при отсутствии прочих вмешательств прогрессивно уменьшается. Таким образом, остающиеся терапевтических принципа призваны справляться именно с остаточными фрагментами биопленок, максимально эффективно используя «окно возможностей» после процедуры дебридмента. В целом без подобного массового уничтожения патогенов вероятность успеха терапии значительно снижается. В случае же хронических раневых процессов активный дебридмент не может проводиться на регулярной основе. Некоторые могут спорить с тем, что дебридмент является «краеугольным камнем» процесса, поскольку некоторые локусы инфекции остаются недоступными (например, при септическом эндокардите). Однако авторы считают, что во всех случаях, когда дебридмент возможен, он должен использоваться. Кроме того, принцип действия технических приборов (пульс-лаважа и т.д. — *Примеч. пер.*) также основывается прежде всего на физико-механическом разрушении биопленок.

4.2.2. Точная диагностика

Диагностика, второй основополагающий принцип, характеризуется точностью и возможностью количественного определения ДНК патогена. Поскольку биопленки обычно полимикробны по своей природе, чтобы разработать комплексный план лечения, ориентированный на компоненты биопленки, необходимо провести полный микробиологический анализ. Большинство полимикробных биопленок демонстрируют поразительное разнообразие, включая в свой состав дрожжи и грибы. Таким образом, высокая эффективность диагностики абсолютно необходимы для воплощения следующих двух принципов — терапии биопленок и рациональной антибиотикотерапии, представляющих собой основу плана лечения.

4.2.2.1. Ограничения в традиционных методах культивирования и оценка чувствительности

Напомним, что в своей работе микробиологи-исследователи полагают, что менее 5% из всех известных бактерий могут культивироваться в лабораторных условиях. Для клинической лаборатории этот показатель еще меньше, не говоря уже о дрожжах и грибах. Помимо этого, и сами традиционные методы выращивания бактериальных культур имеют ограниченную диагностическую точность в отношении биопленочных инфекций, и слишком часто их результаты откровенно неправильно интерпретируются. Так, например, при посевах поверхностного раневого содержимого не удается последовательно идентифицировать одни и те же микроорганизмы, полученные из более глубоких тканевых областей (Chakraborti и др., 2010). Проще говоря, традиционный метод посева может избирательно идентифицировать микробы, для которых была подобрана специфическая среда. Часто при этом даже могут не учитываться другие преобладающие микробы в образце. Образно говоря, водные растения не растут в пустыне. Также и бактериальные культуры. Кроме того, такие почвы (т.е. культуральные среды) требуют правильного фенотипа. Интересно отметить, что по результатам исследовательской программы SENTRY (SENTRY Antimicrobial Surveillance Program) по вопросам противомикробной защиты бактерий рода *Staphylococcus* были определены как доминирующие (~55%) при всех инфекциях кожи и мягких тканей (Rennie и др., 2003). Однако тот факт, что на коже и в мягких тканях может обитать значительное количество видов микробов, невольно заставляет задуматься. Кроме того, если еще раз проанализировать эти данные, становится ясен их фундаментальный характер, так как в лаборатории могут быть выращены менее 2% известных бактерий (Dowd и Wolcott, 2010).

Несмотря на то что программа SENTRY определила стафилококк как наиболее распространенную причину инфекций кожи и мягких тканей, нельзя исключать, что исследование, скорее, доказало, что традиционные методы очень неточны и склонны к селективному созданию более благоприятных условий для стафилококков.

Несмотря на свою актуальность для острых инфекций, определение чувствительности к антибиотикам для хронических инфекций (например, инфекций, содержащих зрелые биопленки) имеет ограниченную значимость. Важно понимать, что традиционное тестирование чувствительности к противомикробным препаратам проводится на планктон-

ных бактериях, выращенных на питательных средах, а не на фенотипах биопленок, прикрепленных к тканям пациента. Широко известно, что фенотипические различия между лабораторно выращенными планктонными бактериями и биопленками хронической инфекции, выявляемыми в клинических условиях, могут быть причиной разночтений в результатах определения чувствительности к противомикробным препаратам (до 1500 раз) (Lazar и Chifiriuc, 2010). Вопрос отсутствия целесообразности нивелирует любые утверждения о практической полезности традиционного определения чувствительности к антибиотикам при диагностике биопленочных инфекций. Кроме того, рутинная практика ограничения чувствительности методов исследования до достижимых концентраций в тканях с помощью системных подходов еще больше ограничивает полезность анализа с практической точки зрения при исследовании образцов хронической инфекции.

По всем причинам, описанным в этой главе выше и в других главах, получение приемлемых уровней точности и полноты диагностики немислимо без использования молекулярных методов при изучении образцов биопленочных инфекций. Традиционные методы имеют весьма ограниченный спектр функций микробиологического анализа, учитывая все видовое разнообразие культур. Значительно хуже то, что результаты посева могут вести врача в неправильном направлении в ходе лечения. Все эти данные зародили во врачах сомнения в отношении обоснованности диагностики при конкретных патологических состояниях в целом, даже если вклад биоагрузки при них сомнений не вызывает.

4.2.2.2. Молекулярная диагностика: полимеразная цепная реакция в сочетании с пиросеквенированием

В данном тексте описаны две клинически доступные молекулярные методики. ПЦР, в сочетании с пиросеквенированием (PSEQ) бактериальной ДНК, позволяет идентифицировать все известные бактерии, дрожжи и грибки в образце независимо от способности микроба расти внутри или на культуральных средах. В частности, метод ПЦР позволяет идентифицировать ДНК патогенов на основе панели предопределенных праймеров для амплификации. Если в образце содержится конкретный вид микроорганизмов, его объем будет нарашен до порога обнаружения. Скорость этого процесса будет зависеть от изначального содержания возбудителя. Несмотря на скорость получения результатов, метод ПЦР нельзя считать универсальным, так как полнота резуль-

тата зависит от набора имеющихся исходных выбранных праймеров. По этой причине ПЦР в основном используется в случаях, когда важна скорость получения результата и нужно «исключить» конкретные патогены и определить содержание их ДНК.

ПС не определяет патогены с помощью заранее выбранных маркеров. Метод ПС основан на секвенировании достаточного количества пар оснований в микробных генетических материалах для определения бактерий разных родов и/или видов. Идентификация осуществляется путем сравнения с библиотекой известных родов и видов. Таким образом, ПС — менее быстрый по сравнению с ПЦР метод (48 ч по сравнению с 1 ч), однако спектр его результатов более обширен и охватывает все известные виды бактерий, дрожжей и грибов. Результаты ПЦР и ПС могут быть выражены количественно, в зависимости от лаборатории и образца, используемого для тестирования. В некоторых случаях определение клинической значимости обнаруженных микробов (контаминация/инфекция) может быть затруднено, однако общие и конкретные решения по интерпретации доступны и продолжают расширяться по мере роста активности применения методов в клинической практике. При отсутствии первичных и острых клинических признаков инфекции основной вопрос интерпретации звучит так — лечить или не лечить? Врач определяет, является ли наличие бактерий инфекцией или просто колонизацией либо присутствует опасный патоген, или это просто контаминация.

В основном такие размышления базируются на представлении о планктонных/острых процессах, а не на более современном понимании биопленочных/хронических инфекций. В случае острой инфекции этот вопрос решается легко, так как первичные признаки острой инфекции очевидны и, как правило, являются причиной, по которой образец был отправлен на анализ. В случае хронической инфекции основное внимание при оценке и интерпретации уделяется вторичным признакам (см. вставку 4.1, рис. 4.1) (Gardner и др., 2001), так как такие инфекции по своей природе являются, скорее, «паразитическими», чем «хищническими». В то время как методы молекулярной диагностики позволяют проводить точную количественную оценку, ее роль в принятии решений о лечении нельзя считать «стандартизированной». По этой причине сейчас результаты молекулярного анализа воспринимаются, скорее, как дополнительная информация.

Во-первых, пороги бактериальной нагрузки, приведенные в литературе, основаны на парадигмах острых процессов, в то время как хрониче-

ские биопленки с течением времени теряют плотность, предположительно, из-за разбавления продуктами жизнедеятельности биопленки. Во-вторых, количество бактерий для развития острого инфекционного процесса указывается на 1 г ткани, который имеет объем более 1 см³. Образцы такого размера редко представляются для клинических анализов. Кроме того, пробы, которые берутся при хронических инфекциях, обычно имеют намного меньшую массу — доли грамма. Наконец, что касается хронической инфекции, следует избегать узкого сосредоточения внимания на одном или преобладающем «патогене». Врану, безусловно, хочется выбрать один микроорганизм, чтобы сосредоточить на нем все лечение. Тем не менее хронические бактериальные инфекции часто разнообразны и полимикробны, включают аэробные и анаэробные бактерии, сосуществующие как сообщество микробов, оказывают единое патогенное действие (Dowd и др., 2008a; Sun и др., 2009). Очень часто по мере развития биопленок к ним присоединяются новые патогенные микроорганизмы. Это создает дополнительные трудности из-за сложности хронических инфекций. Dowd и соавт. сравнили результаты идентификации микробов при хронических раневых инфекциях, полученные традиционным методом и с помощью молекулярной диагностики (Dowd и др., 2008b; Wolcott и др., 2009). Используя данные, представленные для венозных язв нижних конечностей, главными тремя видами, идентифицированными с помощью традиционного посева, были *Enterococcus*, *Staphylococcus* и *Enterobacter*. Как и следовало ожидать, эти виды, а также другие, идентифицированные таким же способом, известны тем, что наиболее легко растут в обычных лабораторных условиях. Однако анаэробы, бактерии с пониженной метаболической активностью и бактерии, требующие специальной среды для роста, как правило, не идентифицировались. И наоборот, ПЦР в сочетании с ПС при анализе отделяемого венозных трофических язв голени выявили значительно более широкую микробную популяцию с существенно иным характером распространенности (табл. 4.1). В частности, при молекулярной диагностике наиболее распространенными оказались *Corynebacterium*, *Staphylococcus* опустились на 8-е место, а *Enterococcus* и *Enterobacter* не попали даже в первую десятку. В некоторых ранах особую роль играли некоторые грибы. Судя по подробной идентификации патогенов, эти методы можно применять в клинической практике при ведении пациентов с хроническими ранами (табл. 4.2), что подтверждается результатами следующего исследования ран (см. раздел 3).

Таблица 4.1. Идентифицированные организмы из венозных трофических ран нижних конечностей, представленные в порядке диагностической распространенности [взято с изменениями из Dowd и соавт. (2008b) и Wolcott и соавт. (2008b)]

Лабораторные культуры	Молекулярная диагностика
<i>Enterococcus spp.</i>	<i>Corynebacterium spp.</i>
<i>Staphylococcus spp.</i>	<i>Bacteroides spp.</i>
<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Peptoniphilus spp.</i>
<i>Pseudomonas spp.</i>	<i>Finegoldia spp.</i>
<i>Klebsiella spp.</i>	<i>Anaerococcus spp.</i>
<i>Serratia spp.</i>	<i>Streptococcus spp.</i>
<i>Citrobacter spp.</i>	<i>Serratia spp.</i>
<i>Acinetobacter spp.</i>	<i>Staphylococcus spp.</i> <i>Prevotella spp.</i>
Другие виды не идентифицированы	<i>Peptostreptococcus spp.</i>

Таблица 4.2. Сравнение результатов микробного анализа при посеве раневого отделяемого [взято с изменениями из Dowd и соавт. (2008b)]

Характеристики	Лабораторный посев	Молекулярная диагностика
Идентификация	Только 1–5% всех известных микроорганизмов могут быть идентифицированы, включая специальные условия культивации	Комплексный анализ известных видов бактерий, дрожжей и грибов. Идентифицирует облигатных анаэробов, которые обычно не определяются с помощью посева
	Ограничивается видами бактерий, которые легко растут в питательных средах	Идентифицируют облигатных анаэробов, не выявляемых культуральными методами
Время до получения результатов	Дни, недели	2–48 ч
Дополнительные диагностические возможности	Идентифицируются только микробы, растущие на культуральных средах, в отличие от остальных	Позволяет осуществлять целенаправленный выбор лечения. Позволяет разрабатывать полноценную микробную стратегию лечения. Точность определения уровня ДНК

Результаты этих и других молекулярно-диагностических оценок хронических ран позволили расширить спектр бактерий, имеющих клиническую значимость для хронических инфекций. В свою очередь, Dowd отметил частую молекулярную идентификацию бактерий вида *Corynebacterium* при раневых инфекциях, хотя эти бактерии историче-

ски считались незначительным непатогенным контаминантом (Dowd и Wolcott, 2010). Теперь же считается, что бактерии вида *Corynebacterium* и некоторые другие являются патогенными и «переводят» биопленочные инфекции в хроническую форму, хотя они часто не определяются с помощью посева.

Молекулярные методы диагностики произвели революцию в понимании разнообразия патогенов, вызывающих хронические инфекции. Способность точно и быстро охарактеризовать микробный состав клинического образца независимо от фенотипа, количества видов, систематической ошибки культивирования и с определением уровня ДНК делает оправданным рутинное использование молекулярной диагностики в лечении инфекций, как острых, так и хронических. Фактически эти свойства и ускоряют принятие этих методов в клинической практике повсеместно, дисциплину за дисциплиной. Молекулярная диагностика резко сократит (а может, и устранил) частоту применения неэффективных эмпирических схем лечения, ошибочно созданных на основе несовершенного традиционного метода диагностики. Возможность улучшить результаты лечения и создать инновационные терапевтические решения, особенно для полимикробных хронических инфекций, безусловно, требует постановки правильного диагноза.

4.2.3. Противобиопленочные препараты

Вероятно, корректнее будет начать с описания того, что **не** является средством против биопленок (biofilm agent). Препараты со специфическими противобиопленочными свойствами не являются или по крайней мере в значительной степени не являются биоцидами, то есть «истинными» противобиопленочными препаратами. Они не производят желаемых эффектов посредством цидных средств (например, продуктов на основе серебра или йода, которые также в значительной степени оказывают токсическое воздействие на клетки пациента). Они также не являются селективными антибиотиками. «Истинные» противобиопленочные препараты, в том виде, как они описаны в контексте этой главы, могут способствовать ослаблению биопленок путем воздействия на множество мишеней в цикле созревания биопленок. В качестве примеров можно назвать нарушение прикрепления биопленки, нарушение фенотипического метаморфоза, стимуляцию фенотипической реверсии обратно к планктонной форме и ингибирование выработки

токсинов. Почти в каждом случае противобиопленочные препараты лучше всего классифицируются как «защитные» контрмеры или агенты, которые снижают общую вирулентность, ингибируя созревание биопленки на разных этапах. Все противобиопленочные препараты, испытанные авторами до настоящего времени, действительно повышают возможности действия противомикробных препаратов (биопленки и антибиотиков), в то время как сами они не обладают таким агрессивным действием, как указанные типы препаратов.

Поскольку истинные новые химические вещества (например, антибиотики) поступают на рынок все реже, появление противобиопленочных препаратов вполне логично, так как они позволяют в максимальной степени использовать имеющиеся в нашем распоряжении антимикробные соединения, даже с расширением их клинической эффективности за пределы существующих схем. Имеющийся у авторов опыт применения этих препаратов в настоящее время ограничивается топическим и местным введением. Логично предположить, что также может проводиться системная терапия, которая в будущем позволит усилить или расширить действие противобиопленочных препаратов.

Как и в случае с антибиотиками, в идеале большинство противобиопленочных препаратов должны подбирать целенаправленно, не эмпирически, чтобы они обеспечивали «охват» идентифицированных микробов, входящих в состав биопленок.

4.2.4. Антибиотики

Чтобы быть эффективными, антибиотики должны селективно воздействовать на микроорганизмы, уничтожение которых зависит от концентрации и продолжительности воздействия препаратов. В настоящее время в клинической практике не проводится определение чувствительности фенотипов биопленок к антибиотикам. Делается это только в условиях исследовательских лабораторий. Тем не менее врачи могут воспользоваться знаниями, полученными в других дисциплинах, занимающихся лечением биопленочных инфекций, — в стоматологии, отоларингологии и офтальмологии. Во всех этих специальностях на основе исторического опыта признана эффективность топического и местного введения антибиотиков в высоких концентрациях. В таких концентрациях гораздо большее количество микроорганизмов может быть покрыто меньшим количеством антибиотиков. Например, ушные

капли, используемые для лечения хронического отита среднего уха (который, безусловно, является биопленочной инфекцией), имеют более чем в 10 раз более высокую концентрацию действующего вещества, чем самый высокий уровень устойчивости бактерий рода *Pseudomonas*. Хронический отит среднего уха, часто имеющий полимикробную природу, безусловно, является биопленочной инфекцией. Характерно, что местная терапия данного заболевания редко бывает неэффективной.

Подробное рассмотрение преимуществ местного и топического введения антибиотиков выходит за рамки данной главы. Коротко перечислим их основные преимущества.

- Прямая доставка к целевому участку ткани вещества в высоких концентрациях, необходимых для преодоления фенотипической устойчивости биопленки.
- Предотвращение фармакокинетических ограничений (поглощение, метаболизм и элиминация).
- Более эффективное проникновение в патологически измененные ткани (в значительной степени зависит от концентрации).
- Менее выраженные побочные эффекты и токсичность.
- Способность усиливать синергизм с антибактериальными препаратами в комбинациях для топического/местного применения.
- Стойкое высвобождение/сохранение на пораженном участке.

Для успешного контроля инфекции и заживления раны требуется комбинированный подход к воздействию на биопленку. Несмотря на то что санация раны первоначально улучшает ее заживление, это полностью не решает проблему бионагрузки, особенно в отношении восстановления раневого ложа, покрытого биопленкой (рис. 4.3). Если не применять дополнительные меры, дающие возможность воздействовать с применением комплексной стратегии «четырёх ножек», польза санации постепенно утрачивается. Для достижения наибольшей эффективности заживления ран необходим подход, включающий агрессивное очищение в сочетании с точечным воздействием антибиотиками и противобиопленочными препаратами (рис. 4.4).

При использовании протокола ухода за ранами с биопленочными инфекциями явно улучшился исход болезни даже у пациентов со значительной и хронической ишемией конечностей (рис. 4.5) (Wolcott и Rhoads, 2008). Так, сравнение исходов среди схожих по остальным параметрам пациентов с ишемией показало, что у 65% пациентов на фоне активной ранозаживляющей терапии наблюдалось улучшение состояния раны, а у 77% пациентов на фоне применения